



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRAN"

Experiencia de uso de anfotericina B deoxicolato a dosis bajas como profilaxis en pacientes sometidos a trasplante alogénico de precursores hematopoyéticos en el Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán en el periodo comprendido del 1º de diciembre de 1998 al 31 de diciembre de 2014: Impacto en Infecciones fúngicas invasivas

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA ESPECIALIDAD
EN MEDICINA INTERNA

PRESENTA
DRA. FLOR MARÍA ARMILLAS CANSECO

TUTORES DE TESIS:
DR. JUAN GERARDO SIERRA MADERO
DR. ALFONSO GULIAS HERRERO

ASESOR DE TESIS:
DR. EDUARDO CARRILLO MARAVILLA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Dr Sergio Ponce de Leon Rosales
Director de Ensenanza
Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutricion "Salvador Zubiran"



Dr Alfonso Guayas Herrero
Subdirector de Servicios Medicos
Profesor Titular del Curso de Medicina Interna
Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutricion "Salvador Zubiran"



Dr. Juan Gerardo Sierra Madero
Jefe del departamento de Infectologia
Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutricion "Salvador Zubiran"



Dr. Eduardo Carrillo Maravilla
Departamento de Medicina Interna
Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutricion "Salvador Zubiran"



Dra. Flor Maria Armillas Canseco
Residente de 4° ano de medicina Interna
Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutricion "Salvador Zubiran"

ÍNDICE

I. Marco teórico y antecedentes

II. Planteamiento del problema y justificación.

III. Objetivos

IV. Metodología

V. Resultados

VI. Discusión

VII. Conclusiones

VIII. Referencias

I. Marco teórico y antecedentes

Las infecciones fúngicas constituyen una causa importante de morbilidad en pacientes receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH), lo cual genera desafíos diagnósticos y terapéuticos, elevación de los costos de manejo y elevada mortalidad¹. En los receptores de trasplante, las infecciones fúngicas invasivas (IFI) son provocadas tanto por hongos levaduriformes como filamentosos, destacando *Candida* spp. y *Aspergillus* spp², menos frecuentemente *Cryptococcus* spp., agentes causales de mucormicosis³ y *Fusarium* spp⁴, infección por hongos endémicos como *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* entre otros⁵.

Durante años la mortalidad descrita en niños y adultos ha sido muy elevada, alcanzando tasas de 80% o más en casos de infección por *aspergillus* en pacientes post-TPH⁶. Sin embargo, debido a mejores estrategias diagnósticas y al uso de antifúngicos como profilaxis se ha mejorado el pronóstico de estos pacientes, describiéndose una mortalidad reciente en candidiasis de 10 a 35% y en aspergilosis de 35 a 50% en niños y adultos sometidos a un trasplante alogénico^{7,8}.

La frecuencia de infección fúngica invasiva en el grupo de pacientes que son sometidos a TPH puede ser tan alta como 25% según datos de autopsias⁵. Datos recientes de pacientes receptores de TPH, reportan incidencias de infección fúngica invasiva del 3.7%. Sin embargo, si se compara trasplante autólogo vs alogénico, la incidencia es mayor en el trasplante alogénico (7.8-8%)⁷. Tal como describe la base de datos de la red de vigilancia de infecciones asociadas a trasplante (The Transplant-Associated Infection Surveillance

Network TRANSNET), la incidencia anual acumulativa de infección fúngica invasiva es de 7.7, 8.1, 5.8 y 1.7 por 100 trasplantes en el grupo de trasplante alogénico no relacionado compatible, alogénico relacionado no compatible, alogénico relacionado compatible y autólogo respectivamente ^{9,10}. Según el tipo de infección fúngica invasiva específica, se describen frecuencias de 3% para candidiasis y 8% para aspergilosis en TPH, que se elevan hasta 10.5% si se considera sólo trasplante alogénico ^{10,11}. Datos del estudio español RESISTRA, que evaluó 1,318 TPH de forma prospectiva en 2 años, determinó una frecuencia de 6.7% de infección fúngica invasiva, con predominio de *Candida non-albicans*, seguido de aspergilosis, con diferencias significativas en TPH autólogo (1.2%) vs alogénico (8.3%)¹². La tasa de supervivencia descrita un año posterior al trasplante en pacientes con candidiasis invasiva y aspergilosis invasiva es del 33% y del 25% respectivamente¹⁰.

Los factores de riesgo para el desarrollo de infección fúngica invasiva están en íntima relación con la temporalidad posterior al trasplante alogénico. Durante el periodo inicial post-trasplante (0-30 días), las infecciones están asociadas a la profundidad y duración de la neutropenia y a la intensidad de la mucositis; por lo que en esta etapa prevalecen *Candida* spp. y *Aspergillus* spp. Durante la segunda fase (día 30-100), los principales factores de riesgo son el uso de inmunosupresores, principalmente esteroides, el desarrollo de enfermedad injerto contra huésped (EICH) y la infección por CMV, predominando en este periodo *Aspergillus* spp. y mucorales. Finalmente en la tercera fase que comprende posterior al día 100, el riesgo de infección depende de la presencia de EICH crónico y de la intensidad de su tratamiento. En este periodo *Aspergillus* spp. continúa siendo el agente prevalente⁵. En el estudio español RESISTRA, 41% de los casos de aspergilosis se presentaron en la fase neutropénica, 46% posterior al injerto hasta el día 180 y 12% después de los 6 meses de efectuado el trasplante alogénico¹².

Aunque la profilaxis antifúngica es una estrategia de tratamiento no selectivo, su impacto en la incidencia de estas infecciones y en su mortalidad la coloca como la mejor elección actualmente disponible para pacientes de alto riesgo como son los pacientes sometidos a trasplante de células progenitoras¹³. La profilaxis antifúngica ha sido estudiada por al menos 20 años, y actualmente los fármacos azoles (posaconazol, voriconazol) así como algunas equinocandinas (micafungina) son consideradas opciones aceptables como profilaxis en pacientes sometidos a trasplante alogénico. Cabe mencionar que posaconazol y voriconazol han reducido la mortalidad relacionada al trasplante de manera significativa¹⁴.

Mención específica requiere la profilaxis anti-hongos filamentosos, que a pesar de la escases de evidencia sólida, las guías recomiendan el uso de un agente con actividad anti-hongos filamentosos en pacientes con aspergilosis invasiva previa, neutropenia de más de 2 semanas de duración o neutropenia prolongada antes del trasplante. De manera similar, las guías europeas recomiendan fluconazol en la profilaxis post trasplante durante la fase neutropénica temprana, siempre que sea combinado con vigilancia dirigida a la presencia de hongos filamentosos (incluyendo estudios de imagen y/o antígeno de galactomanano). Estas guías también recomiendan que un agente con cobertura para hongos filamentosos sea reservado para pacientes con EICH, siendo posaconazol la opción preferida ^{15,16}.

La anfotericina B es un antifúngico que pertenece a la familia de los polienos que consiste de 7 dobles enlaces conjugados, un éster interno, un grupo carboxilo libre y una cadena lateral glucósido con un grupo amino primario. El fármaco es pobremente absorbido posterior a su administración oral (menor al 5%)¹⁷.

Para uso intravenoso, la anfotericina B ha sido solubilizada con deoxicolato como suspensión micelar. Su mecanismo de acción consiste en la unión al ergosterol (el principal esterol en la membrana celular de muchos hongos), lo cual lleva a la formación de poros que permiten la fuga de componentes celulares y por lo tanto la disrupción de la síntesis de

la pared celular del hongo. Un segundo mecanismo de acción puede involucrar el daño oxidativo de la célula a través de una cascada de reacciones oxidativas ligadas a lipoperoxidación de la membrana celular. Siguiendo su administración IV, una gran proporción del fármaco se une a proteínas plasmáticas antes de distribuirse principalmente en el tejido retículo-endotelial (hígado, bazo, médula ósea y pulmón) y en el riñón. La eliminación del fármaco es lenta, con una vida media de 24-48 horas y de hasta más de 15 días. A pesar de concentraciones indetectables en líquido cefalorraquídeo, tiene lugar en el tratamiento de infecciones fúngicas del sistema nervioso central debido a su penetración en el tejido cerebral infectado a través de la disrupción de la barrera hemato-encefálica. Dentro de sus efectos adversos causa reacciones relacionadas a la infusión las cuales incluyen fiebre, temblor, escalofríos, mialgias, artralgias, náusea, vómito, cefalea y broncoespasmo. La nefrotoxicidad inducida por anfotericina B deoxicolato es caracterizada por azoemia (la cual es exacerbada por agentes nefrotóxicos concomitantes), pérdida urinaria de potasio y magnesio, acidosis tubular renal y disminución en la capacidad de concentración de la orina. La toxicidad renal que ejerce este polieno tiene el potencial de conllevar al paciente a requerir diálisis, particularmente en receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos, pacientes con diabetes mellitus, falla renal previa al tratamiento y pacientes que reciben nefrotóxicos concomitantes^{18,19}.

Adicionalmente el espectro antifúngico de la anfotericina B es amplio e incluye muchas especies de *Candida*, *Aspergillus*, mucorales, la mayoría de las micosis endémicas y muchos hongos hialinos y negros^{20,21}.

Los estudios realizados con anfotericina B deoxicolato como profilaxis antifúngica datan desde el año de 1990 por O'Donnell, el cual reportó mejoría en la supervivencia de pacientes que recibieron profilaxis con anfotericina B deoxicolato ²².

En 1991, Rousey y colaboradores reportaron una reducción significativa en la infección por especies de *aspergillus* en el periodo post trasplante inmediato (reducción del 23 a 9%) usando anfotericina B deoxicolato 20 mg al día, comenzando el primer día del inicio del esquema de acondicionamiento, hasta la recuperación de la cuenta de neutrófilos a >500 cel/mm³ ²³.

En el estudio publicado por Koh et al., el cual fue un estudio aleatorizado prospectivo, que comparó la eficacia de fluconazol contra dosis bajas de anfotericina B deoxicolato durante los primeros 100 días post-trasplante, la incidencia reportada de infección fúngica probada (fluconazol 12% vs anfotericina B 12.8%), infección fúngica sospechada (fluconazol 4% vs anfotericina B 2.3%), infección fúngica superficial (fluconazol 1% vs anfotericina B 4.6%), no mostró ninguna diferencia significativa. La supervivencia a los 100 días post trasplante fue similar entre los 2 grupos (fluconazol 78% vs anfotericina B 70% $p=0.254$) y la muerte atribuible a infección fúngica fue similar en ambos grupos (6% vs 7%, $p>0.05$)²⁴.

Otro estudio mostró que dosis bajas de anfotericina B (0.2 mg/kg/día) fue tan efectiva como la profilaxis con fluconazol en la prevención de infección fúngica en pacientes que se sometieron a trasplante de médula ósea, sin embargo los pacientes que recibieron anfotericina B a dosis bajas tuvieron más frecuencia de toxicidad renal ²⁵.

Otros tres estudios que usaron una dosis aún menor de anfotericina B (0.1 mg/kg/día), mostraron una reducción en la colonización orofaríngea por levaduras y un retraso en el uso de dosis altas empíricas de anfotericina B ^{22,26,27}.

La evidencia sugiere que la dosis baja de anfotericina B utilizada como profilaxis está justificada por el hallazgo de que los niveles séricos medidos del fármaco fueron generalmente del doble de la cifra de la concentración mínima inhibitoria (MIC) reportado en las levaduras aisladas de los pacientes colonizados, lo que sugiere un efecto biológico significativo, y por lo tanto el potencial de prevenir infección fúngica invasiva. Además en

este mismo estudio se encontró que no se favorecía el desarrollo de colonización por levaduras resistentes a polienos ²⁶.

Sin embargo, en la mayoría de los estudios, el uso de anfotericina B deoxicolato profiláctica se ha asociado a mayor toxicidad (tanto relacionada a la infusión como renal). En un estudio prospectivo, aleatorizado que comparó anfotericina B a dosis bajas vs fluconazol como profilaxis antifúngica en pacientes sometidos a trasplante autólogo y alogénico, 21% de los pacientes aleatorizados a recibir el primer antifúngico desarrollaron toxicidad renal en los primeros 100 días post trasplante, en comparación con 13% que recibió fluconazol. Sólo 3 pacientes del grupo de anfotericina B requirieron la discontinuación del fármaco por disfunción renal²⁴. En el estudio realizado por Wolff, la profilaxis con fluconazol fue significativamente mejor tolerada, ya que 19% de los pacientes sometidos a trasplante alogénico aleatorizados a recibir anfotericina B deoxicolato a dosis bajas desarrollaron toxicidad renal²⁵. En el estudio publicado por Perfect et al, efectos adversos relacionados a la infusión como escalofrío, fiebre, náusea y vómito durante y posterior a 2 horas de iniciada la infusión, fueron significativamente mayores en el grupo de anfotericina B a dosis bajas ($p < 0.01$)²⁶ motivo por el cual, y debido a la aparición de formas liposomales de anfotericina B con mejor perfil en cuanto a toxicidad, y a antifúngicos de otros grupos mejor estudiados, se hizo obsoleta y poco recomendable el uso de anfotericina B deoxicolato.

II. Planteamiento del problema y justificación

Los pacientes sometidos a TPH alogénico constituyen la población de mayor riesgo para el desarrollo de infección fúngica invasiva, la cual si se desarrolla causa morbi-mortalidad sustancial en este grupo de pacientes^{28,29}.

Los estudios publicados que compararon anfotericina B deoxicolato a dosis bajas con fluconazol como profilaxis antifúngica, concluyeron que la eficacia fue similar entre ambos agentes en la incidencia de infección fúngica invasiva [incidencia global de infección fúngica invasiva de 5.6% (intervalo de confianza 95% de 3.7-8.5%), incluyendo 4.1% y 7.5% de pacientes que recibieron fluconazol y anfotericina B respectivamente], lo cual fue similar a incidencias reportadas en otros estudios ^{25, 30-32}.

El estudio realizado por Koh, también mostró eficacia similar entre anfotericina B deoxicolato a dosis bajas y fluconazol como profilaxis²⁴. Además, se ha descrito que la anfotericina B disminuye la colonización por levaduras²⁶.

Fármacos antifúngicos como fluconazol e itraconazol, los cuales han sido estudiados como profilaxis antifúngica en pacientes post TPH, presentan algunas desventajas. En un meta-análisis publicado por Kanda et. al. fluconazol fue sólo efectivo como profilaxis durante la fase temprana (neutropénica) del trasplante alogénico, durante la cual predomina la infección por *Candida*, sin embargo este agente tiene poca actividad contra especies de *Aspergillus* y especies de *Candida* no *albicans* (*Candida Kruseii*), lo cual ha propiciado un aumento en la incidencia de infecciones por estos microorganismos ^{31, 33-35}.

Además, los pacientes sometidos a TPH alogénico están en riesgo de infección por *aspergillus* durante el periodo neutropénico pre-injerto, así como durante la enfermedad injerto contra huésped, por lo que se prefiere el uso de un agente antifúngico con actividad contra *aspergillus*. En las recomendaciones publicadas por la Infectious Diseases Working

Party of the German Society for Haematology and Oncology (AGIHO) del 2014, se cambió el grado de recomendación de fluconazol de A1 a B1 en el periodo pre-injerto en comparación con la guía previa publicada en el 2009. En el periodo post-injerto la recomendación se cambió de A1 a C1 en pacientes sin enfermedad injerto contra huésped, y por último no recomendando su uso ante el caso de desarrollo de enfermedad injerto contra huésped en el paciente post TPH alogénico¹⁶, en la cual el posaconazol es la opción de profilaxis preferida³⁶.

En cuanto al itraconazol, la biodisponibilidad es un problema importante. Las cápsulas han sido usadas en varios ensayos clínicos, sin embargo la biodisponibilidad es muy baja. La solución oral de itraconazol con ciclodextrina tiene una considerable mejor biodisponibilidad, sin embargo la intolerancia gastrointestinal es un efecto adverso mayor³⁷⁻⁴⁰, además de tener un grado de recomendación baja (C1) en escenarios de neutropenia y trasplante¹⁶. Cabe mencionar que ambos fármacos azoles tienen múltiples interacciones medicamentosas.

Relevancia de la hipótesis

La anfotericina B deoxicolato es un agente antifúngico con un amplio espectro de actividad que incluye especies de *Aspergillus* y levaduras como *Candida krusei*, los cuales son resistentes a fluconazol.

Además de su amplio espectro de actividad, es de bajo costo y tiene menor potencial para seleccionar colonización por organismos resistentes en comparación con otros antifúngicos también utilizados como profilaxis.

Es probable que la profilaxis con anfotericina B deoxicolato pruebe ser costo efectiva en nuestra población de pacientes.

III. Objetivos

Objetivo principal:

Describir la experiencia con el uso de anfotericina B deoxicolato a dosis bajas como profilaxis, en pacientes sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en el Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán.

Objetivos secundarios:

- Describir en los pacientes sometidos a TPH alogénico los efectos adversos que se presentaron en los pacientes que recibieron la terapia profiláctica con anfotericina B deoxicolato a dosis bajas durante los primeros 100 días post trasplante.
- Describir la frecuencia de infecciones fúngicas invasivas en los pacientes sometidos a TPH alogénico durante el primer año post trasplante.
- Determinar la frecuencia del uso de anfotericina B a dosis terapéuticas u otros agentes antifúngicos para el tratamiento de infección fúngica invasiva en los primeros 100 días post trasplante.
- Determinar los factores de riesgo que se asociaron al desarrollo de infección fúngica invasiva en nuestra población de estudio.
- Determinar la mortalidad global en este grupo de pacientes en los primeros 100 días post trasplante y al año post trasplante.

IV. Metodología

Diseño del estudio

Se trata de una cohorte, retrospectiva y retrolectiva.

Universo de trabajo

Pacientes sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos que tuvieran expediente completo en el Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Pacientes sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos durante el periodo comprendido del 1 de diciembre de 1998 al 31 de diciembre del 2014.

Criterios de exclusión:

- Pacientes sometidos a trasplante autólogo de precursores hematopoyéticos durante el periodo comprendido de 1 de diciembre de 1998 al 31 de diciembre del 2014.
- Pacientes sometidos a trasplante alogénico que recibieron profilaxis con un antifúngico distinto.
- Pacientes sometidos a trasplante alogénico con evidencia de infección fúngica sistémica preexistente dentro de 2 semanas previas a la realización del trasplante.
- Pacientes sometidos a trasplante alogénico que hayan recibido antifúngicos sistémicos en las dos semanas previas a la realización del trasplante.

Métodos

Los números de registro institucional de los pacientes sometidos a trasplante alogénico se obtuvieron mediante la base de datos de la clínica de trasplante de médula ósea del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", la cual existe desde 1986. Esta base de datos es llenada con datos clínicos de manera prospectiva desde entonces y representa un centro de referencia nacional para la realización de trasplante de progenitores hematopoyéticos. Por lo tanto, el periodo de estudio abarcó los años 1998 a 2014, ya que durante este periodo de tiempo la principal profilaxis antifúngica empleada en estos pacientes fue la anfotericina B a dosis bajas.

Se analizaron variables demográficas (edad, sexo), clínicas (enfermedad hematológica subyacente, estado de la enfermedad al momento del trasplante, número de trasplante, tipo de donador, compatibilidad HLA, esquema de acondicionamiento utilizado previo al trasplante, fecha del trasplante, número de CD34 infundidas, fecha de injerto de neutrófilos y plaquetas, efectos adversos relacionados al uso de la profilaxis antifúngica, presencia de fiebre persistente, presencia de infección fúngica superficial e infección fúngica invasiva, uso de antifúngico terapéutico, presencia de enfermedad injerto contra huésped agudo, mucositis, requerimiento de alimentación parenteral e infección por citomegalovirus) ,paraclínicas (biometría hemática completa, magnesio, calcio y creatinina), imagenológicas (tomografía), microbiológicas (toma de cultivos y sus aislamientos, histopatología, citopatología y antígeno de galactomanano y antigenemia por CMV).

El análisis de los datos se realizó mediante estadística descriptiva, utilizando el programa SPSS en su versión 21.0.

V. Resultados

Características de los pacientes

Se realizaron 80 trasplantes alogénicos durante el periodo de estudio. Las características demográficas de los pacientes y relacionadas al trasplante se muestran en las Tablas 1 y 2. El 58.8% fueron del género masculino. La mediana de edad al momento del trasplante fue de 30 años. Sesenta y nueve (86.2%) pacientes fueron tratados debido a una enfermedad hematológica maligna subyacente y el 13.8% por enfermedad no maligna. Trece pacientes (16.3%) habían recibido un trasplante previo.

Setenta y siete pacientes (96.3%) recibió un trasplante de donador HLA idéntico, de los cuales sólo 4 fueron de donador no relacionado. El régimen de acondicionamiento más frecuentemente utilizado fue del tipo mieloablativo BUCY2 (12 mg/kg de busulfán y ciclofosfamida 80 mg/kg) en el 75% de los pacientes. Cincuenta y seis pacientes (77.8%) presentaban al momento del trasplante neutropenia grave.

Resultados clínicos posterior al alo-trasplante

La mediana de duración de la neutropenia fue de 19 días. En cuanto a la reconstitución hematopoyética, el injerto de neutrófilos ($>500 \times 10^9 \times L$) se llevo a cabo en el día +19 (rango +17-+24) y el injerto de plaquetas ($>20 \times 10^9 L$) a +14 (rango +11-+20.75). La incidencia de enfermedad injerto contra huesped agudo fue del 31.3% (25 pacientes), presentándose con las siguientes frecuencias: piel (26.3%), hepático (17.5%) y gastrointestinal (12.5%). Todos los pacientes con sospecha de EICH agudo recibieron tratamiento con esteroide a dosis altas (bolos de metilprednisolona 2 mg/kg o prednisona a 1 mg/kg). Estos pacientes desarrollaron enfermedad injerto contra huesped crónico. El 87.3% de los pacientes presentó mucositis durante el alo-trasplante, siendo significativa en 16 (20%) pacientes que requirieron la administración de nutrición parenteral. La presencia de antigenemia para

CMV se presentó en 25.3% de los pacientes, y en solo 3.8% se documentó enfermedad por CMV.

Profilaxis antifúngica y efectos adversos.

Sesenta y nueve pacientes (86.3%) recibieron profilaxis antifúngica con anfotericina B a dosis bajas, 8 pacientes recibieron profilaxis con otros antifúngicos y 3 pacientes no recibieron profilaxis. La mediana de días de profilaxis antifúngica con anfotericina B fue de 16 días, (rango 12-24.5). El 83.8% de los pacientes presentó eventos adversos relacionados al fármaco: hipomagnesemia, hipocalcemia, lesión renal y fiebre en 64.2%, 44.8%, 38.8%, 16.4% respectivamente. En siete pacientes que tuvieron lesión renal aguda asociada al fármaco se requirió la suspensión de manera definitiva.

Tratamiento antifúngico, incidencia y características clínicas de la infección fúngica invasiva

Veintidos pacientes (31.9%) recibieron tratamiento antifúngico terapéutico por sospecha de infección fúngica invasiva. El 90.9% de estos recibió anfotericina B a dosis terapéutica. Entre otros antifúngicos utilizados en esta población para el tratamiento de IFI fueron el voriconazol en 8 pacientes (11.6%), caspofungina en 4 (5.8%), y anidulafungina, fluconazol y posaconazol en 1 paciente respectivamente. La mediana de días de tratamiento antifúngico fue de 11 días (rango 10-32).

En cuanto a los desenlaces de infección fúngica invasiva posterior al trasplante (Tabla 3), se detectaron 13 episodios de IFI (18.8%). En los primeros 100 días post trasplante alogénico, hubo una incidencia de 5 casos, con 1 caso probado con aislamiento de *Aspergillus fumigatus*, 1 probable y 3 posibles. El principal sitio de infección fúngica fue el pulmón en 4 casos y 1 caso en sistema nervioso central. La mediana de tiempo posterior al alo-trasplante para el inicio de IFI temprana fue de 22 días (rango 16-39.5 días). Posterior

a los 100 días post alo trasplante, se presentaron 8 casos de IFI, 5 casos fueron probada, 2 probable y 1 posible. El sitio de infección mas frecuente fue pulmón en 62.5% de los casos, seguido por sangre 1(12.5%), senos paranasales 1(12.5%) y diseminada 1(12.5%). El aislamiento mas frecuente fue aspergillus flavus en 50%, candida glabrata en 12.5%, mucormicosis en 12.5% y sin aislamiento en 2 casos (25%). La mediana de tiempo posterior al alo-trasplante para el inicio de IFI tardía fue de 210.5 días (rango 134-311.5). La infección fúngica superficial se presentó en 51.4% de los pacientes que recibieron anfotericina B a dosis profiláctica, y en 72.7% en quienes recibieron profilaxis con otros antifúngicos (p=0.014).

En la figura 1 se presenta el riesgo acumulado de IFI global. A los 100 días post trasplante el riesgo es de 6.5%, a los 6 meses 11.1%, y al año de 20.8% respectivamente.

Factores de riesgo para IFI

Los factores de riesgo de acuerdo al análisis bivariado para el desarrollo de IFI son presentados en la tabla 4. La presencia de neutropenia al momento del trasplante ($<500 \times 10^9 \times L$), la viremia por CMV y el uso de NPT fueron factores de riesgo significativos asociados a el desarrollo de IFI. Al realizar el análisis multivariado la presencia de viremia por CMV (RR 4.22 (IC 95% 1.14, 15.53)) (p=0.031) fue significativa como factor de riesgo asociado a IFI (tabla 5).

Desenlaces de las infecciones fúngicas invasivas.

La mortalidad asociada a IFI fue de 4 casos (5%). La supervivencia global a 5 años para pacientes que presentaron infección fúngica en los primeros 100 días post trasplante fue de 20.0%, IC95% (0, 55.1), comparado con los que no presentaron IFI temprana 61.1%, IC 95% (47.4, 74.8) (p<0.001) (Figura 2). La supervivencia global a 5 años para el grupo total de pacientes que presentaron IFI (temprana y tardia) fue de 23.1%, IC95% (0.2, 46.0),

comparado con la población que no presentó IFI 66.4%, IC 95% (51.9, 80.9) ($p < 0.001$) (Figura 3). Al realizar la búsqueda de factores de riesgo asociados a mortalidad de acuerdo al análisis bivariado, el donador no relacionado, el uso de nutrición parenteral, la enfermedad por CMV, y la presencia de IFI temprana y global fueron factores de riesgo significativos asociados a mortalidad (tabla 6). En el análisis multivariado, el donador no relacionado, el uso de NPT y la presencia de IFI temprana persistieron como factores de riesgo asociados a mortalidad (tabla 7).

Tabla 1. Características clínicas previas al trasplante de médula ósea

	Total	Profilaxis con anfotericina B	Sin profilaxis con anfotericina B	p
N	80 (100.0)	69 (86.3)	11 (13.7)	NA
Sexo masculino	47 (58.8)	40 (58.0)	7 (63.6)	1.000
Edad	30.5, (22.0, 40.75)	31, (21.5, 41.0)	27, (22, 36)	1.000
Enfermedad hematológica				
LLA	13 (16.3)	13 (18.8)	0 (0.0)	0.100
LMA	16 (20.0)	16 (23.2)	0 (0.0)	
LMC	14 (17.5)	10 (14.5)	4 (36.4)	
Linfomas	5 (6.3)	4 (5.8)	1 (9.1)	
SMD	17 (21.3)	12 (17.4)	5 (45.5)	
Otro SMP	4 (5.0)	4 (5.8)	0 (0.0)	
AA	8 (10.0)	7 (10.1)	1 (9.1)	
Otra	3 (3.8)	3 (4.3)	0 (0.0)	
Estado de la enfermedad*				
Primera RC	7 (9.0)	7 (10.3)	0 (0.0)	0.103
Segunda RC	13 (16.7)	13 (19.1)	0 (0.0)	
Tercera RC	3 (3.8)	3 (4.4)	0 (0.0)	
Recaída post-TMO	8 (10.3)	8 (11.8)	0 (0.0)	
Remisión parcial	3 (3.8)	3 (4.4)	0 (0.0)	
Fase crónica LGC	11 (14.2)	7 (10.3)	4 (40.0)	
Fase acelerada LGC	2 (2.6)	2 (2.9)	0 (0.0)	
No aplica	31 (39.7)	25 (36.8)	6 (60.0)	
TMO previo	13 (16.3)	12 (17.4)	1 (9.1)	0.682

*Información disponible solo para 78 pacientes.

Tabla 2. Características relacionadas al trasplante de médula ósea

	N	Total	Profilaxis con anfotericina B	Sin profilaxis con anfotericina B	P
Donador relacionado	80	73 (91.3)	62 (89.9)	11 (100.0)	0.585
HLA idéntico	80	77 (96.3)	66 (95.7)	11 (100.0)	1.000
Tipo de acondicionamiento	79				
Sin ATG		69 (87.3)	58 (85.3)	11 (100.0)	0.342
Con ATG		10 (12.7)	10 (14.7)	0 (0.0)	
Neutropenia al momento del TMO	72	56 (77.8)	49 (80.3)	7 (63.6)	0.247
Día de injerto de neutrófilos	66	19, (17.0, 24.25)	18, (17, 24)	24, (20, 26)	0.112
Día de injerto de plaquetas	64	14, (11.0, 20.75)	14, (11, 20)	20, (13, 31)	0.074
Duración de la neutropenia	75	19, (15, 30)	19, (15, 29.5)	20, (15.75, 34.75)	0.708

Tabla 3. Desenlaces fúngicos posteriores al trasplante de médula ósea

	Total	Profilaxis con anfotericina B	Sin profilaxis con anfotericina B	p
<i>Primeros 100 días posteriores al TCPH</i>				
Infección fúngica superficial*	27 (60.0)	19 (51.4)	8 (72.7)	0.014
Infección fúngica invasiva	5 (6.3)	5 (7.2)	0 (0.0)	1.000
Infección probada	1 (20.0)	1 (20.0)	0 (0.0)	0.837
Infección probable	1 (20.0)	1 (20.0)	0 (0.0)	
Infección posible	3 (60.0)	3 (60.0)	0 (0.0)	
Sitio de infección				
Pulmón	4 (80.0)	4 (80.0)	0 (0.0)	NA
Sistema nervioso central	1 (20.0)	1 (20.0)	0 (0.0)	
Aislamiento				
Aspergillus fumigatus	1 (20.0)	1 (20.0)	0 (0.0)	NA
Sin aislamiento	4 (80.0)	4 (80.0)	0 (0.0)	
Tiempo a la IFI temprana (días)	22, (16.0, 39.5)	22, (16.0, 39.5)	NA	
Fiebre persistente†	54 (70.1)	48 (72.7)	6 (54.5)	0.288
<i>Más de 100 días posteriores al TCPH</i>				
Infección fúngica invasiva§	8 (10.1)	8 (11.8)	0 (0.0)	0.591
Infección probada	5 (62.5)	5 (62.5)	0 (0.0)	0.702
Infección probable	2 (25.0)	2 (25.0)	0 (0.0)	
Infección posible	1 (12.5)	1 (12.5)	0 (0.0)	
Sitio de infección				
Pulmón	5 (62.5)	5 (62.5)	0 (0.0)	NA
Sangre	1 (12.5)	1 (12.5)	0 (0.0)	
Senos paranasales	1 (12.5)	1 (12.5)	0 (0.0)	
Diseminada	1 (12.5)	1 (12.5)	0 (0.0)	
Aislamiento				
Aspergillus flavus	4 (50.0)	4 (50.0)	0 (0.0)	NA
Cándida glabrata	1 (12.5)	1 (12.5)	0 (0.0)	
Mucor	1 (12.5)	1 (12.5)	0 (0.0)	
Sin aislamiento	2 (25.0)	2 (25.0)	0 (0.0)	
Tiempo a la IFI tardía (días)	210.5, (134.0, 311.5)	210.5, (134.0, 311.5)	NA	
<i>Infección fúngica invasiva global</i>	13 (16.3)	13 (18.8)	0 (0.0)	0.196
Tiempo a la IFI global (días)	134, (24.5, 241.0)	134, (24.5, 241.0)	NA	

*Información disponible solo para 45 pacientes. †Información disponible solo para 77 pacientes. §Información disponible para 79 pacientes.

Tabla 4. Análisis bivariado para factores asociados a infección fúngica invasiva global

Factor	RR	IC 95%	P
Sexo (1 = sexo femenino)	1.48	(0.49, 4.42)	0.485
Edad (1 = 1 año)	0.96	(0.91, 1.01)	0.122
Tipo de donador (1 = no relacionado)	2.45	(0.54, 11.08)	0.245
HLA (1 = no idéntico)	1.77	(0.56, 5.59)	0.330
Acondicionamiento (1 = Con ATG)	2.14	(0.59, 7.76)	0.249
Profilaxis con anfotericina B	86915361	(0, ∞)	0.998
Neutropenia al TMO	0.29	(0.09, 0.89)	0.030
Duración de la neutropenia (1 = 1 día)	1.00	(0.99, 1.01)	0.962
Mucositis en los primeros 100 días	80935419	(0, ∞)	0.998
Viremia por CMV	6.96	(2.09, 23.19)	0.002
Enfermedad por CMV	11.46	(3.06, 43.00)	< 0.001
EICH agudo	2.15	(0.72, 6.45)	0.170
Uso de NPT	3.98	(1.33, 11.88)	0.013

Tabla 5. Análisis multivariado de factores de riesgo para IFI global

Factor	RR	IC 95%	P
Neutropenia al TMO	0.32	(0.10, 1.10)	0.070
Viremia por CMV	4.22	(1.14, 15.53)	0.031
Uso de NPT	3.26	(0.92, 11.55)	0.067

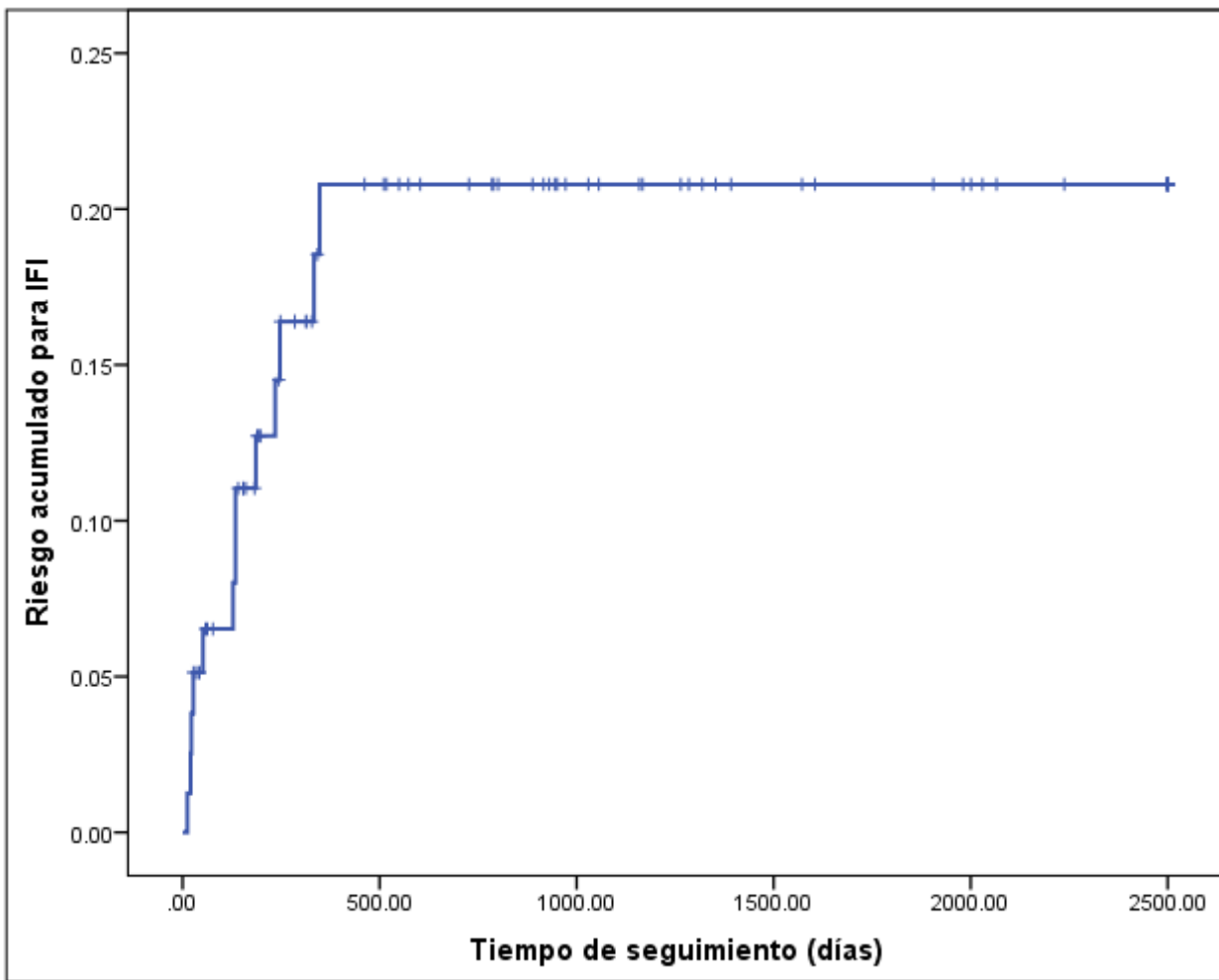
Tabla 6. Análisis bivariado para factores asociados a mortalidad

Factor	RR	IC 95%	P
Sexo (1 = sexo femenino)	1.12	(0.51, 2.48)	0.778
Edad (1 = 1 año)	1.02	(0.99, 1.05)	0.191
Tipo de donador (1 = no relacionado)	3.34	(1.26, 8.84)	0.015
HLA (1 = no idéntico)	0.57	(0.10, 3.16)	0.523
Acondicionamiento (1 = Con ATG)	1.68	(0.63, 4.46)	0.301
Profilaxis con anfotericina B	2.50	(0.59, 10.58)	0.213
Neutropenia al TMO	1.00	(0.40, 2.51)	0.990
Duración de la neutropenia (1 = 1 día)	1.00	(0.99, 1.01)	0.807
Mucositis en los primeros 100 días	1.18	(0.27, 5.10)	0.824
Viremia por CMV	1.48	(0.66, 3.32)	0.347
Enfermedad por CMV	3.97	(1.18, 13.38)	0.026
EICH agudo	1.90	(0.87, 4.13)	0.106
Uso de NPT	2.54	(1.14, 5.67)	0.023
IFI temprana	6.09	(2.06, 17.96)	0.001
IFI global	4.38	(2.00, 9.60)	< 0.001

Tabla 7. Análisis multivariado de factores de riesgo para mortalidad

Factor	RR	IC 95%	P
Tipo de donador (1 = no relacionado)	3.41	(1.20, 9.73)	0.022
Enfermedad por CMV	2.13	(0.53, 8.49)	0.284
Uso de NPT	2.75	(1.12, 6.72)	0.027
IFI temprana	6.42	(1.83, 22.58)	0.004

Figura 1. Riesgo acumulado para IFI global

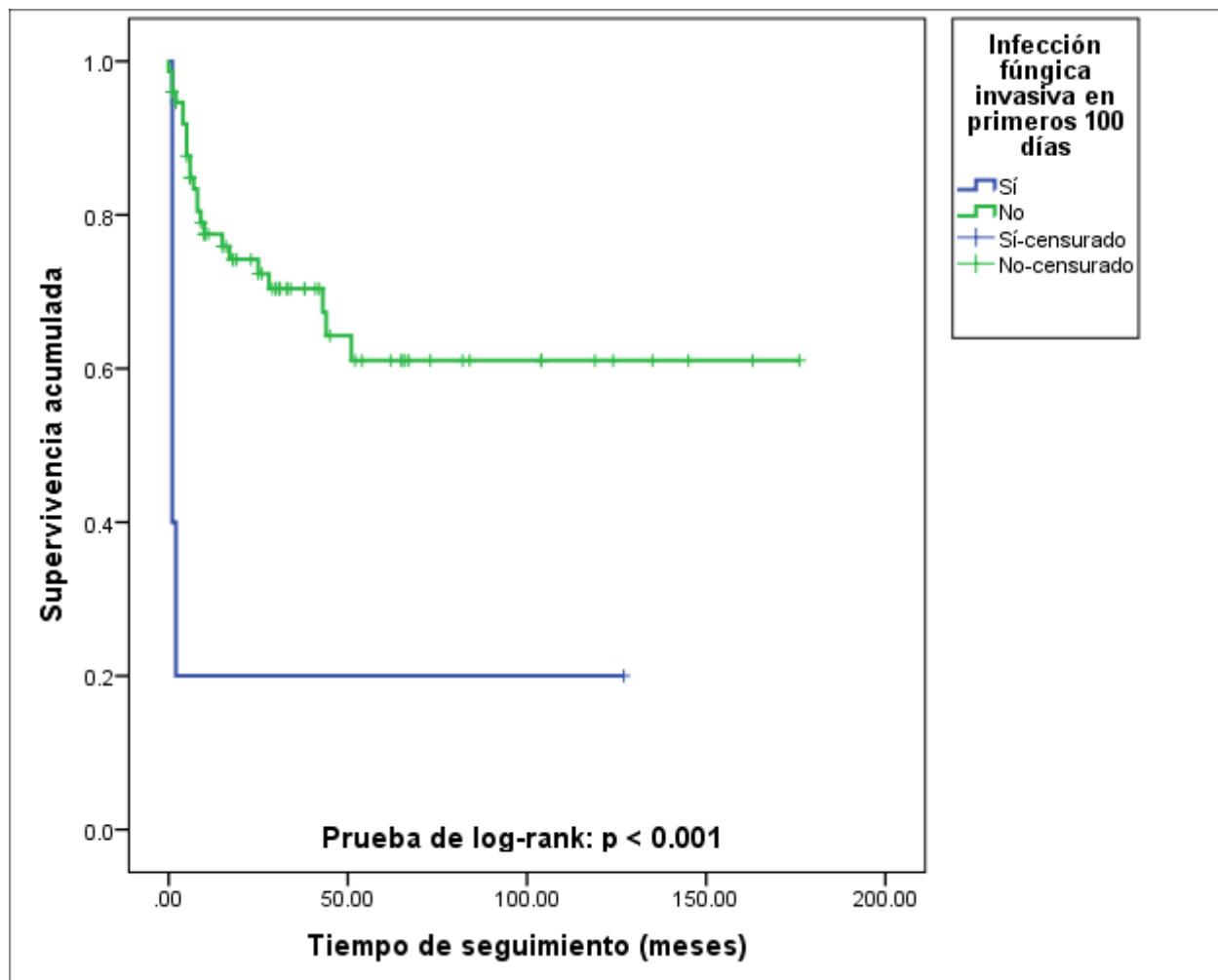


Riesgo acumulado para IFI a 100 días = 6.5%

Riesgo acumulado para IFI a 6 meses = 11.1%

Riesgo acumulado para IFI a 1 año = 20.8%

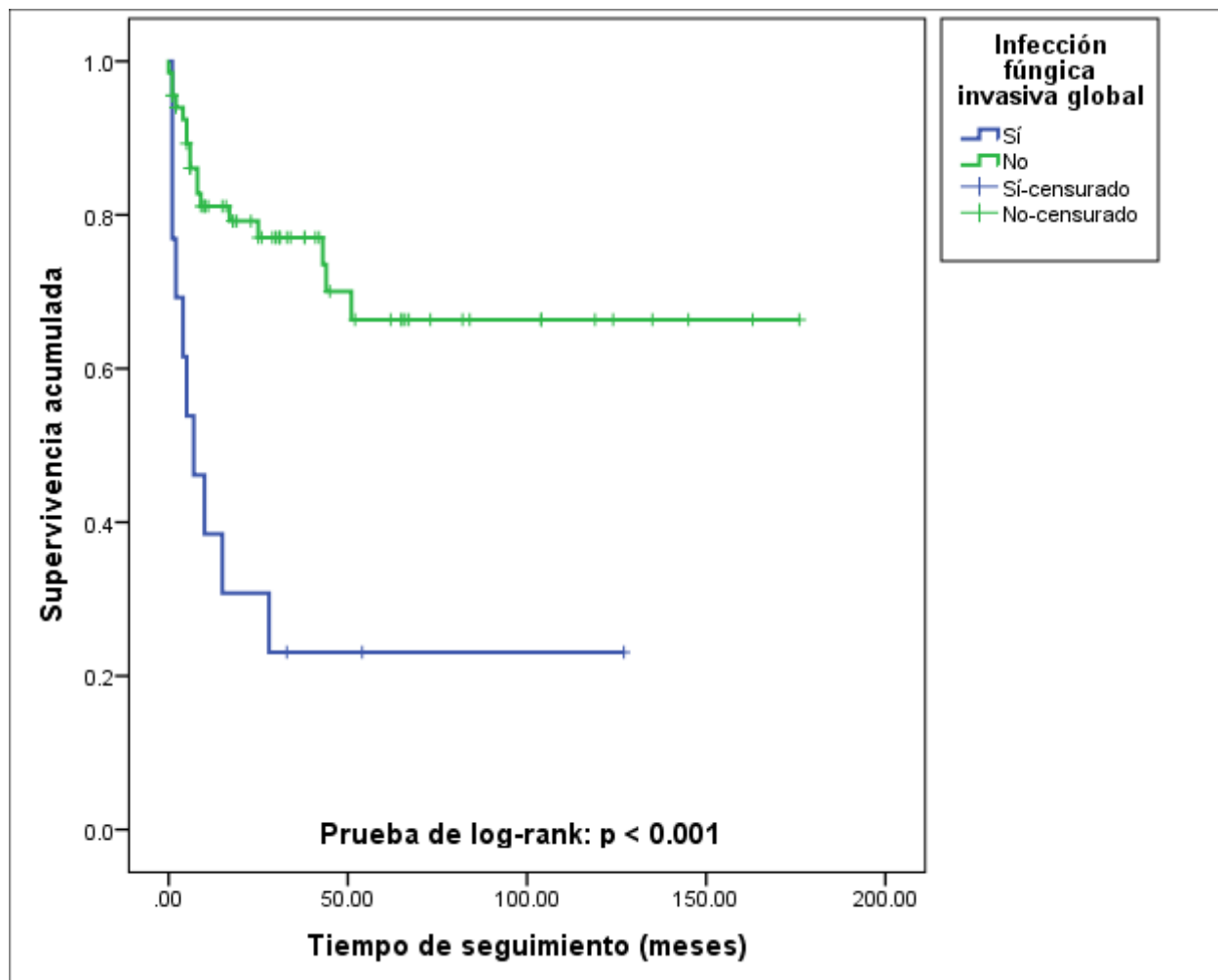
Figura 2. Supervivencia de acuerdo a IFI temprana



Supervivencia global a 5 años:

- Grupo con IFI temprana: 20.0%, IC95% (0, 55.1)
- Grupo sin IFI temprana: 61.1%, IC 95% (47.4, 74.8)

Figura 3. Supervivencia de acuerdo a IFI global (temprana y tardía)



Supervivencia global a 5 años:

- Grupo con IFI global: 23.1%, IC95% (0.2, 46.0)
- Grupo sin IFI global: 66.4%, IC 95% (51.9, 80.9)

VI. Discusión

Las infecciones fúngicas invasivas continúan siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad post-trasplante, principalmente posterior al trasplante alogénico.

En el presente estudio realizado en nuestro centro, se detectaron 13 episodios de IFI (18.8%) en un periodo de 16 años. Durante los primeros 100 días hubo una incidencia global de 7.2%, lo cual es similar a la tasa de 2.8-7% reportada en otros estudios que involucran pacientes que recibieron anfotericina B deoxicolato a dosis profilácticas^{24-25,30}. En cuanto a las infecciones fúngicas posterior a los 100 días post trasplante, las cuales no están en estrecha relación con la profilaxis sino mas bien asociadas a otros factores de riesgo previamente descritos, se presentaron en 8 casos (11.8%) lo cual es similar a lo reportado por el RESISTRA, cuya incidencia fue del 12%¹². La aspergillosis continua siendo la infección mas problemática posterior al injerto en receptores de trasplante alogénico.

El aislamiento mas frecuentemente reportado asociado a IFI fue el de *Aspergillus flavus/fumigatus* en 38.8% de los casos, 1 caso de *Candida Glabrata*, 1 de *Mucormicosis* y en 46.15% de los casos no tuvieron aislamiento. La razón por la cual la mayor parte de los pacientes no presentó aislamiento pudiera ser debida al uso agresivo de dosis altas empíricas (0.5-0.7 mg/kg/día) de anfotericina B para pacientes persistentemente febriles. El requerimiento de la iniciación de la dosis terapéutica se planeó en base a la definición convencional de sospecha de infección fúngica, 3-5 días de fiebre no explicada que ocurre en pacientes que reciben antibióticos de amplio espectro.

Múltiples factores de riesgo asociados a IFI incluyen el tipo de donador, el régimen de acondicionamiento, la neutropenia prolongada, la reactivación por CMV, la enfermedad injerto contra huésped y el recibir esteroides a dosis altas⁵. Acorde a nuestros datos, nosotros encontramos factores de riesgo similares asociados a IFI. La presencia de viremia por CMV fue significativa, y aunque no persistieron en el multivariado, la presencia de

neutropenia al momento del trasplante y el grado de mucositis, que en el caso de nuestro estudio podemos asumir que los pacientes que tuvieron requerimiento de NPT, tuvieron mucositis de mayor severidad, son factores de riesgo asociados al desarrollo de IFI.

Se ha reportado previamente la mayor frecuencia de toxicidad renal en pacientes que reciben anfotericina B a dosis bajas como profilaxis ²⁵. La frecuencia de lesión renal asociada al fármaco fue del 38.8%, lo cual es mucho mayor a lo reportado por otros autores, las cuales oscilan entre el 12.6-21%. La suspensión del fármaco asociado a lesión renal fue también mayor, la cual se llevó a cabo en 7 pacientes comparado con 3 pacientes reportados en 2 series diferentes^{18,24-25}. El uso profiláctico de formulaciones lipídicas de anfotericina B pudiera disminuir la toxicidad de la anfotericina B convencional. Sin embargo, estas formulaciones son no costeables en nuestro sistema de salud para uso profiláctico, además de que existen otros fármacos antifúngicos como azoles de nueva generación que se encuentran aprobados con mayor nivel de evidencia en el escenario de trasplante alogénico.

Otro hallazgo importante es la menor proporción de pacientes que presentaron infección fúngica superficial al recibir anfotericina B a dosis profilácticas comparado con aquellos que no la recibieron. Estudios previos que usaron dosis profilácticas aun menores de anfotericina B (0.1 mg/kg/día) mostraron una reducción en la colonización orofaríngea por levaduras ^{22,26,27}.

Nosotros reportamos que los pacientes con IFI tienen una menor supervivencia a 5 años fue de 23.1%, IC95% (0.2, 46.0), comparado con la población que no presentó IFI 66.4%, IC 95% (51.9, 80.9) ($p < 0.001$) reflejando el hecho de que las IFI tienen un impacto significativo en la supervivencia a largo plazo en pacientes sometidos a trasplante.

VII. Conclusiones

Nosotros documentamos 13 episodios de infección fúngica invasiva. La incidencia de IFI temprana fue de 7.2% con anfotericina B a dosis profilácticas. Hubo menor presencia de infecciones fúngicas superficiales en los pacientes que recibieron anfotericina B a dosis profilácticas, sin embargo a costa de mayor toxicidad asociado al uso de este esquema profiláctico.

VIII. Referencias:

1. Martino R, Subira M, Rovira M, Solano C, Vázquez L, Sanz G F, et al. Invasive fungal infections after allogeneic peripheral Blood stem cell transplantation: incidence and Risk factors in 395 patients. *Br J Haematol* 2002;116:475-82
2. Morgan J, Wannemuehler K A, Marr K A, Hadley S, Kontoyiannis D P, Walsh T J, et al. Incidence of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cells and solid organ transplantation: interim results of a prospective multicenter surveillance program. *Med Mycol* 2005; 43 Suppl 1: S49-58.
3. Upton A, Marr K A. Emergence of opportunistic mould infections in the hematopoietic stem cell transplant patient. *Curr Infect Dis Rep* 2006;8:434-41.
4. Nucci M, Marr K A, Querioz-Telles F, Martins C A, Trabasso P, Costa S, et al. *Fusarium* infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2004;38:1237-42.
5. Rabagliati R, Santolaya M E. Profilaxis antifúngica en niños y adultos sometidos a trasplante de órganos sólidos y de precursores hematopoyéticos. *Rev Chilena Infectol* 2012;29 (Supl 1):11-18.
6. Trullas J C, Cervera C, Benito N, de la Bellacasa J P, Agusti C, Rovira M, et al. Invasive pulmonary aspergillosis in solid organ and bone marrow transplant recipients. *Transplant Proc* 2005;37:4091-3.
7. Neofytos D, Horn D, Anaissie E, Steinbach W, Olyaei A, Fishman J, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clin Infect Dis* 2009;48:265-73.
8. Marr K A, Bow E, Chiller T, Maschmeyer G, Ribaud P, Segal B, et al. Fungal infection prevention after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2009;44:483-7.

9. Pagano L, Caira M, Nosari A, Van Lint M T, Candoni A, Offidani M, et al. Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: results of the SEIFEM B-2004 study-Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. *Clin Infect Dis* 2007;45:1161-70.
10. Kontoyiannis D P, Marr K A, Park B J, Alexander B D, Anaissie E J, Walsh T J, et al. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis* 2010;50:1091-100.
11. Marr K A, Carter R A, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood* 2002;100:4358-66.
12. Rovira M, Camps I R. Infections in stem cell transplantation. *Enf Infec Microbiol Clin* 2007;25:477-86.
13. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, et al. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society OF America. *Clin Infect Dis*. 2011;52:427-431.
14. Busca A et al. Antifungal Therapy in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2016, 8(1): e2016039.
15. Maertens J, Marchetti O, Herbrecht R, et al. European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3-2009 update. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46:709-718.
16. Tacke D, Buchheidt D, Karthaus M, et al. Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies. 2014 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the German Society for Haematology and Oncology. *Ann Hematol* (2014) 93:1449-1456.

17. Walsh T J. Treatment of Aspergillosis: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2008;46 (3):327-60.
18. Bates DW, Su L, Yu DT, et al. Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. *Clin Infect Dis* 2001;32:696-93.
19. Wingard JR, Kubilis P, Lee L, et al. Clinical significance of nephrotoxicity in patients treated with amphotericin B for suspected or proven aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1999;29:1402-1407.
20. Daneshmend T K, Warnock D W. Clinical pharmacokinetics of systemic antifungal drugs. *Clin Pharmacokinet.* 1983;8(1):17
21. McEvoy, G (Ed). *American Hospital Formulary Service- 1996.* American Society of HEALTH System Pharmacists, Bethesda, MD, 1996.
22. O'Donnell MR, Schmidt GM, Tegtmeier B, et al. Prophylactic low-dose amphotericin B decreases systemic fungal infection in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Blood.* 1990;76(Suppl)558a. Abstract.
23. Rousey SR, Russler S, Gottlieb M, Ash RC. Low-dose amphotericin B prophylaxis against invasive *Aspergillus* infections in allogeneic marrow transplantation. *Am J Med.* 1991;91:484-492.
24. Koh LP, Kurup A, Goh YT, et al. Randomized trial of fluconazole versus low-dose amphotericin B in prophylaxis against fungal infections in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol.* 2002;71:260-267.
25. Wolff SN, Fay J, Stevens D, Herzig RH, Pohlman B, Bolwell B, Lynch J, Ericson S, Freytes CO, Le Maistre F, Collins R, Pineiro L, Greer J, Stein R, Goodman SA. Fluconazole vs low-dose amphotericin B for the prevention of fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation: a study of the North American Marrow Transplant Group. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:853-859.

26. Perfect JR, Klotman ME, Gilbert CC, Crawford DD, Rosner GL, Wright KA, Peters WP. Prophylactic intravenous amphotericin B in neutropenic autologous bone marrow transplant recipients. *J Infect Dis* 1992;165:891-897.
27. Riley DK, Pavia AT, Beatty PG, Petersen FB, Spruance JL, Stokes R, Evans TG. The prophylactic use of low-dose amphotericin B in bone marrow transplant patients. *Am J Med* 1994;97:509-514.
28. Pagano L, Caira M, Candoni A, Offidani M, Fianchi L, Martino B, Pastore D, Picardi M, Bonini A, Chierichini A, Fanci R, Caramatti C, Invernizzi R, Mattei D, Mitra ME, Melillo L, Aversa F, Van Lint MT, Falcucci P, Valentini CG, Girmenia C, Nosari A (2006) The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica* 91(8):1068-1075.
29. Pagano L, Caira M, Nosari A, Van Lint MT, Candoni A, Offidani M, Aloisi T, Irrera G, Bonini A, Picardi M, Caramatti C, Invernizzi R, Mattei D, Melillo L, de Waure C, Reddicono G, Fianchi L, Valentini CG, Girmenia C, Leone G, Aversa F (2007). Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: results of the SEIFEM B-2004 study- Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. *Clin Infect Dis* 45(9):1161-1170.doi:10.1086/522189.
30. Goodman JL, Winston DJ, Greenfield RA, Chandrasekar PH, Fox BF, Kaiser H, Shadduck RK, Shea TC, Stiff P, Friedman DJ. A controlled trial of fluconazole to prevent fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation. *New Engl J Med* 1992;326:845-851.
31. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Miller CB, Karp JE, Saral R. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *N Engl J Med* 1991;325:1274-1277.

32. Alangaden G, Chandrasekar PH, Bailey E, Khaliq Y. Antifungal prophylaxis with low-dose fluconazole during bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994;14:919-924.
33. Kanda Y, Yamamoto R, Chizuka A et al. Prophylactic action of oral fluconazole against fungal infection in neutropenic patients. A meta-analysis of 16 randomized, controlled trials. *Cancer* 2000;89:1611-25.
34. Persons DA, Laughlin M, Tanner D, Gockerman JP, Hatborn JW. Fluconazole and *Candida krusei* fungemia. *N Engl J Med* 1991;325:1315.
35. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Miller CB, Karp JE, Saral R. Association of *Torulopsis glabrata* infections with fluconazole prophylaxis in neutropenic bone marrow transplant patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1847-1849.
36. Ullmann AJ et al. Infectious diseases in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: prevention and prophylaxis strategy guidelines 2016. *Ann Hematol.* 2016 ;95(9):1435-55.
37. Glasmacher A, Hahn C, Molitor E et al. Itraconazole trough levels in antifungal prophylaxis with six different dosing regimens using hydroxypropyl-cyclodextrin oral solution or coated-pellet capsules. *Mycoses* 1999;42:591-600.
38. Prentice AG, Warnock DW, Johnson SA et al. Multiple dose pharmacokinetics of an oral solution of itraconazole in patients receiving chemotherapy for acute myeloid leukaemia. *J Antimicrob Chemother* 1995;36:657-63.
39. Prentice AG, Warnock DW, Johnson SA et al. Multiple dose pharmacokinetics of an oral solution of itraconazole in autologous bone marrow transplant recipients. *J Antimicrob Chemother* 1994;34:247-52
40. Marr K A, Crippa F, Leisenring W, Hoyle M, Boeckh M, Balajee SA, Nichols WG, Musher B, Corey L(2004). Itraconazole versus fluconazole for prevention of fungal

infections in patients receiving allogeneic stem cell transplant. *Blood* 103(4):1527-1533.

41. Winston DJ, Maziarz RT, Chandrasekar PH, Lazarus HM, Goldman M, Blumer JL, Leitz GJ, Territo MC (2003). Intravenous and oral itraconazole versus intravenous and oral fluconazole for long-term antifungal prophylaxis in allogeneic hematopoietic stem-cell transplant recipients. A multicenter, randomized trial. *Ann Intern Med* 138 (9):705-713.